

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penggunaan antibiotik yang tinggi akan meningkatkan tekanan selektif proses evolusi dan proliferasi strain mikroorganisme yang bersifat resisten. Mikroorganisme patogen yang resisten terhadap antibiotik sangat sulit dieliminasi selama proses infeksi, dan infeksi oleh beberapa strain bakteri dapat berakibat kematian (Pratiwi, 2008). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mencari alternatif antibakteri baru yang berasal dari bahan alami dari tumbuhan, salah satunya adalah tumbuhan kakao.

Kakao (*Theobroma cacao* L.) berasal dari hutan tropis di Amerika tengah dan di bagian utara Amerika Selatan. Tanaman kakao diperkenalkan ke Indonesia oleh bangsa Spanyol pada tahun 1560, tepatnya di Minahasa, Sulawesi (Wahyudi *et al.*, 2008). Kakao kaya kandungan polifenol. Polifenol bermanfaat bagi kesehatan seperti antioksidan, antikarsinogenik, antiinflamasi, dan antimikroba (Hii *et al.*, 2009).

Kakao dan produk kakao memiliki variasi jumlah kandungan polifenol. Menurut Fapohunda dan Afolayan (2012) kulit buah kakao kaya kandungan fenolik seperti asam sinamat, tanin, pirogalol, epikatekin-3-galat, kuersetin dan resorsinol. Kulit buah kakao mengandung senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan, tetapi selama ini kulit buah kakao belum banyak dimanfaatkan dan hanya sebagai limbah.

Telah dilaporkan bahwa ekstrak metanol kulit buah kakao dapat menghambat pertumbuhan *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumonia* ATCC 13047, dan *Bacillus subtilis* (Fapohunda & Afolayan, 2012). Polifenol yang terkandung dalam kakao dapat mencegah proses pembentukan karies karena aksi antibakterinya sehingga secara signifikan dapat mengurangi pembentukan biofilm dan produksi asam oleh *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sanguinis* (Ferrazzano *et al.*, 2009)

Ekstrak kulit biji kakao efektif mengurangi *Streptococcus mutans* bila digunakan sebagai obat kumur (Srikanth *et al.*, 2008). Menurut Pasiga (2007) ekstrak kulit buah kakao yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* adalah ekstrak etanol dengan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) 0,5%. Menurut Sartini dkk. (2011) pelarut etanol : air (7:3) merupakan penyari yang optimal untuk mengekstraksi komponen antibakteri dari kulit buah kakao kering. Ekstrak etanol kulit buah kakao kering berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*.

Streptococcus mutans merupakan flora normal pada mulut (Pratiwi, 2008) dan dikaitkan dengan etiologi karies gigi manusia (Srikanth *et al.*, 2008). *Bacillus subtilis* dapat menyebabkan bakteremia dan septikemia pada pasien dengan kekebalan tubuh rendah (Samiullah dan Bano, 2011).

Berdasarkan penelitian tersebut kakao terbukti mengandung senyawa polifenol yang bersifat polar yang dapat dimanfaatkan. Polifenol merupakan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri. Pelarut metanol : air bersifat polar sehingga dapat menarik senyawa polifenol. Fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri dalam ekstrak etanol kulit buah kakao kering belum diketahui. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis*.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis*?
2. Golongan senyawa apa yang terkandung dalam fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis* dengan metode difusi.
2. Menentukan golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis* dengan metode bioautografi.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.)

a. Klasifikasi tanaman kakao

Taksonomi tumbuhan kakao dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas: Dilleniidae

Bangsa : Malvales

Suku : Sterculiaceae

Marga : Theobroma

Jenis : *Theobroma cacao* L.

(Despal, 2005)

b. Deskripsi tanaman

Tanaman kakao memiliki karakteristik yaitu pohon kecil, bercabang, tinggi 3-8 m. Daun bertangkai, bulat telur terbalik memanjang, meruncing. Bunga berkelamin 2, berbilangan 5. Daun kelopak bentuk lanset, panjang 6-8 mm, putih, kadang-kadang keunguan. Daun mahkota panjang 8-9 mm, helaianya menggantung, putih kuning atau kemerahan (Steenis, 2005). Buah kakao muda berwarna hijau jika sudah masak berwarna kuning (Gambar 1). Kulit buah memiliki 10 alur dalam dan dangkal yang letaknya berselang-seling. Kulit buah kakao tebal tetapi lunak dan permukaannya kasar (PPKKI, 2004).



Tlagakita.blogspot.com

ekon.com

Gambar 1. Kakao (*Theobroma cacao* L.)

c. Khasiat

Polifenol yang terkandung dalam kakao bermanfaat sebagai anti-karsinogenik dan antiinflamasi (Hii *et al.*, 2009). Kulit buah kakao bermanfaat sebagai antibakteri (Sartini, 2011). Kulit biji kakao sebagai antivirus (Sakagami, 2008). Kakao dapat mencegah pembentukan karies gigi (Ferrazzano *et al.*, 2009). Kakao memiliki aktivitas antioksidan tinggi (Lee *et al.*, 2003)

d. Kandungan kimia

Kulit buah kakao kaya kandungan fenolik seperti asam sinamat, tanin, pirogalol, epikatekin-3-galat, kuersetin, dan resorsinol (Fapohunda & Apolayan, 2012). Kelompok utama polifenol kakao yaitu katekin (37%), antosianin (4%), proantosianidin (58%). Parakatekin utama yaitu O-epikatekin hingga 35% dari isi polifenol (Hii *et al.*, 2009). Kulit buah kakao mengandung tanin, polifenol, flavonoid, alkaloid dan steroid (Pasiga, 2007).

2. Metode Penyarian dan Fraksinasi

a. Maserasi

Proses maserasi dilakukan dengan menempatkan serbuk simplisia tanaman dalam wadah tertutup dan ditambahkan dengan pelarut yang sesuai, sistem didiamkan selama 7 hari, dengan sesekali dilakukan pengadukan. Cairan disaring dan residu ditekan untuk mendapatkan cairan. Maserasi dilakukan berulang agar lebih efisien untuk mendapatkan kandungan zat aktif yang lebih banyak (Handa, 2008).

b. Fraksinasi

Salah satu metode pemisahan senyawa aktif dapat dilakukan dengan metode partisi pelarut. Teknik pemisahan secara partisi menggunakan dua pelarut yang tidak saling campur dalam corong pisah. Dalam partisi senyawa aktif akan terdistribusi ke dalam dua pelarut berdasarkan perbedaan koefisien partisinya. Pemisahan dengan metode partisi menggunakan pelarut dengan polaritas bertingkat dari pelarut yang non polar ke yang lebih polar. Metode partisi pelarut relatif mudah dilakukan dan efektif sebagai langkah awal untuk pemisahan senyawa dari ekstrak (Otsuka, 2006).

3. *Streptococcus mutans*

Klasifikasi *Streptococcus mutans* :

Kingdom : Bacteria
 Phylum : Firmicutes
 Classis : Bacilli
 Ordo : Lactobacillales
 Familia : Streptococcaceae
 Genus : Streptococcus
 Spesies : *Streptococcus mutans*

(NCBI^a, 2012)

Streptococcus mutans merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat membentuk pasangan pada pertumbuhannya (Brooks, 2005) dan merupakan flora normal pada mulut. Pada umumnya flora normal dalam tubuh tidak patogen, tetapi pada kondisi tertentu bisa menjadi patogen oportunitis (Pratiwi, 2008).

Streptococcus mutans menyebabkan karies gigi. *Streptococcus mutans* mampu menempel pada permukaan gigi dan menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Selanjutnya enzim glikosiltransferase mengubah glukosa menjadi dekstran, sedangkan fruktosa difermentasi menjadi asam laktat. Akumulasi bakteri dan dekstran membentuk plak gigi (Pratiwi, 2008)

4. *Bacillus subtilis*

Klasifikasi *Bacillus subtilis* :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Firmicutes
 Classis : Bacilli
 Ordo : Bacilalles
 Familia : Bacillaceae
 Genus : Bacillus
 Spesies : *Bacillus subtilis*

(NCBI^b, 2012)

Bacillus subtilis termasuk bakteri Gram positif, berbentuk batang yang membentuk rantai. *Bacillus subtilis* merupakan organisme saprofit yang banyak terdapat dalam tanah, air, udara, dan tumbuh-tumbuhan (Brooks, 2005). *Bacillus subtilis* dapat menyebabkan penyakit endokarditis, pneumonia, bakteremia, dan sepsis pada pasien dengan sistem kekebalan tubuh rendah (Samiullah & Bano, 2011).

5. Antibakteri

Antibakteri adalah obat pembasmi mikroba khususnya mikroba yang merugikan manusia (Setiabudy, 2008). Antimikroba digunakan dalam pengobatan medis infeksi bakteri. Antimikroba yang ideal menunjukkan toksisitas selektif dimana obat berbahaya bagi parasit dan tidak membahayakan inang. Toksisitas selektif lebih bersifat relatif dan tidak mutlak (Brooks, 2005).

Mekanisme kerja antimikroba sebagai berikut :

- a. Mengganggu metabolisme sel mikroba
- b. Menghambat sintesis dinding sel mikroba
- c. Mengganggu permeabilitas membran sel mikroba
- d. Menghambat sintesis protein sel mikroba
- e. Menghambat atau merusak sintesis asam nukleat sel mikroba (Setiabudy, 2008).

6. Uji Aktivitas Antibakteri

Tujuan uji antibakteri adalah menentukan potensi dan kontrol kualitas selama proses produksi antibakteri. Kegunaan uji antibakteri adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Untuk menentukan aktivitas antibakteri dapat digunakan metode difusi.

Metode difusi yang digunakan yaitu metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer) adalah piringan yang berisi antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikrobia pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008).

7. Bioautografi

Uji bioautografi merupakan metode spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil KLT (Kromatografi Lapis Tipis) yang memiliki aktivitas antibakteri, antifungi, dan antivirus. Metode bioautografi yang digunakan yaitu bioutografi kontak dimana senyawa aktif yang bersifat sebagai antibakteri berdifusi ke permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Setelah diinkubasi letak senyawa aktif tampak sebagai area jernih berlatar belakang keruh (Pratiwi, 2008).

E. Landasan Teori

Kakao yang tergolong dalam suku *Sterculiaceae* pada bagian kulit buahnya memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Menurut penelitian Sartini dkk. (2007) ekstrak etanol 70% kulit buah kakao kering memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi ekstrak 0,25 mg/disk, 0,5 mg/disk, dan 1 mg/disk terhadap *Streptococcus mutans* dengan menunjukkan adanya zona hambat. Penelitian yang dilakukan Pasiga (2007) menunjukkan ekstrak etanol 0,5% kulit buah kakao memiliki aktivitas antibakteri dengan daya hambat paling besar terhadap *Streptococcus mutans* dengan zona hambat 14,89 mm. Fapohunda & Afolayan (2012) mengungkapkan bahwa ekstrak metanol kulit buah kakao mampu menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* dengan diameter zona hambat 5 mm.

Kulit buah kakao kaya fenolat seperti tanin, pirogalol, asam sinamat, epikatekin-3-galat, kuersetin, dan resorsinol (Fapohunda & Afolayan, 2012). Menurut Ferrazzano (2009) polifenol utama yang ditemukan dalam kakao adalah katekin : (+)-katekin dan (+)-epigalokatekin, polimer sianidin, 3-a-L-arabinosida, 3-BD-galaktosida sianidin. Penelitian dilakukan Pasiga (2007) ekstrak etanol kulit buah kakao positif mengandung tanin, polifenol, alkaloid, flavonoid, dan steroid.

Polifenol yang terkandung dalam kakao dapat mencegah proses pembentukan karies karena aksi antibakterinya, secara signifikan dapat mengurangi pembentukan biofilm dan produksi asam oleh *Streptococcus mutans* (Ferrazzano *et al.*, 2009). Polifenol aktif sebagai antibakteri (Hirao, 2010).

Kandungan utama kakao adalah polifenol. Polifenol bersifat polar (Evans, 2002). Kondisi optimal untuk mengekstraksi komponen antimikroba dari kulit buah kakao adalah dengan penyari etanol:air (7:3) menggunakan kulit buah kakao kering (Sartini, 2011). Berdasarkan sifat kelarutannya polifenol dapat larut dalam pelarut metanol : air (1:1) sehingga dimungkinkan aktivitas antibakteri kulit buah kakao yang paling banyak terdapat pada fraksi metanol-air.

F. Hipotesis

Fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao mengandung senyawa golongan polifenol yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis*.